

論文の内容の要旨

論文題目 エストロゲンレセプターの組織特異的転写制御に関する研究

氏 名 山本 泰司

女性ホルモンとも呼ばれるエストロゲンは、特に女性の様々な生理機能の維持に関わっている。加齢と共に訪れる女性の閉経はこのエストロゲン制御能の低下を意味し、更年期障害として総称される骨粗鬆症や高脂血症等の疾患を引き起こす。また、エストロゲン制御の破綻は、標的臓器である乳腺や子宮において発癌を誘因することも知られている。このエストロゲンの機能発現には各種組織においてエストロゲンを受容するレセプター（エストロゲンレセプター，ER）が関与する。ER は核内レセプターと呼ばれる転写因子群に属し、 α と β の二種のサブタイプが知られている。

エストロゲンレセプターリガンドは、ER の存在が証明されて以来、エストロゲン依存的に増悪する乳癌の抑制にエストロゲンアンタゴニストが有効であると考えられたため、約半世紀に渡り、製薬会社を中心に種々のアンタゴニストが合成されてきた。この内、乳癌治療薬として最も成功した tamoxifen は乳癌におけるアンタゴニストとしての作用のみならず、骨や心血管系等の組織特異的にはアゴニスト作用を持つという複雑な ER 制御能を持つリガンドであることが明らかとなっている。tamoxifen はこの複雑な作用により子宮における発癌のリスクをあげるといった副作用を有することも明らかとなっており、最近ではより厳密に ER の転写を制御する薬剤の合成に力が注がれている。その結果、アゴニスト作用を示さない fulvestrant(ICI182,780)や骨に特に強いアゴニスト作用を有する raloxifene などの創製に成功し、臨床上で使われ始めている。tamoxifen や raloxifene のように組織選択的にアンタゴニスト作用とアゴニスト作用を示しうる薬剤は SERM (selective estrogen

receptor modulator)とも呼ばれる。これらの多様なリガンドの創製が可能であることは ER の転写を多様に制御しうる可能性を示しているが、その制御のメカニズムは明らかとなっていない。ER の組織特異的制御メカニズムを明らかにすることは、患者にとってより有益な薬剤の創製につながる。そこで、ERs の機能について種々のエストロゲンレセプターリガンドを用いて検討を行った。

まず初めに、ER のリガンド結合領域における転写共役因子群との相互作用について検討し、ER はエストロゲンによりコアクチベーターと結合し、SERM によりコリプレッサーと結合することを明らかにした。また、リガンド結合領域に位置する α -helix にアミノ酸変異を加え、そのことによる転写共役因子群との相互作用の変化を検討し、helix3 と 5 に転写共役因子群との相互作用に重要な領域があること、また、tamoxifen 耐性乳癌株から同定され、tamoxifen にアゴニスト活性を示させる変異として知られていた helix3 上の D351Y 変異はエストロゲンによるコアクチベーター結合能は維持したまま、SERM によるコリプレッサーのリクルートが抑制される変異であることが明らかとなった。

次に、この ER (D351Y) に対し、pure anti-estrogen として知られる fulvestrant と新規 SERM、TAS-108 がアゴニスト活性を示さないことを見出し、それらのリガンドについて検討を加えた。この二薬剤は共にステロイド骨格を有するという共通点を有する。

検討の結果、fulvestrant は ER の分解作用および直接的に ER を DNA 結合から阻害することにより転写を完全にブロックできることが判明した。一方、TAS-108 は ER の DNA 結合阻害能を持たず、tamoxifen や raloxifene といった既存の SERM と同様にコリプレッサーをリクルートすることが明らかとなった。更に tamoxifen では活性化が見られる ER のリガンド非結合領域の転写活性化領域 (AF-1) において、TAS-108 では活性化が観察されず、AF-1 への結合が報告されているコアクチベーター p300 の結合抑制が示唆された。

合成リガンドにより完全なアンタゴニスト作用を ER の DNA 結合を阻害することなしに、示しうることが示唆された。

この TAS-108 は代表的なエストロゲン依存性乳癌株 MCF-7 細胞の増殖を抑制し、xenograft mouse モデル系においても tamoxifen と同等以上の抑制活性を示した。OVX ラットモデルにおいては tamoxifen が示す子宮へのアゴニスト作用はほとんど示さず、エストロゲン不足による骨密度減少を抑制した。

この ER に対する完全なアンタゴニスト作用を示す TAS-108 がどのように骨に対しアゴニスト作用を示しうるのか、次に検討した。

まず、エストロゲンレセプターのサブタイプである ER に対する作用を検討した。その結果、TAS-108 は ER に対しコリプレッサーのみならず、コアクチベーター TIF2 をリクルートし、弱い転写活性を示しうることが判明した。このことの骨への作用の影響を検討するため、ER、ER それぞれの KO マウスに対する作用を WT マウスに対するものと比較した。その結果、ER KO マウスに対する骨密度維持作用は tamoxifen と同様に

TAS-108でも低下し、ER KOマウスに対する骨密度維持作用はほとんど変化しなかったことから、ER α では無く、ER β を介して骨に作用していることが推察された。

SERMの骨への作用はエストロゲンと同様のアゴニスト作用を骨選択的に発現すると考えられているが、骨代謝マーカーの検討結果からは逆の作用を示している可能性も示唆された。ER β へのアンタゴニスト作用と骨密度維持作用の関係については今後の課題である。

本研究から、各種リガンドによって、レセプターのDNA結合の抑制やコファクターのリクルートを複雑に制御することが可能であり、その結果として組織選択的アンタゴニスト作用とアゴニスト作用を分離することおよび理想的な作用のみを合わせ持たせることの可能性が示唆された。これらの知見は、エストロゲンのみならず、各種ホルモン制御の破綻に起因する疾患をより安全にコントロールする薬剤の開発につながるものと期待される。